Aus dem Pathologischen Institut der Universität Bern (Direktor: Prof. *C. Wegelin)*, pathologisch-anatomischer Teil unter Leitung von Prof. *B. Walthard*, — und aus der Medizinischen Abteilung des Tiefenauspitals der Stadt Bern (Chefarzt: Dozent *W. Hadorn)*

Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung hoher Insulindosen auf das Myokard von Kaninchen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae der Universität Bern

Vorgelegt von

ANGIOLINA NEGRI

aus Fescoggia, Kanton Tessin

Bern Gedruckt bei Eicher & Roth 1942

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Bern (Direktor: Prof. *C. Wegelin*), pathologisch-anatomischer Teil unter Leitung von Prof. *B. Walthard*, — und aus der Medizinischen Abteilung des Tiefenauspitals der Stadt Bern (Chefarzt: Dozent *W. Hadorn*)

Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung hoher Insulindosen auf das Myokard von Kaninchen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae der Universität Bern

Vorgelegt von

ANGIOLINA NEGRI

aus Fescoggia, Kanton Tessin

Bern Gedruckt bei Eicher & Roth 1942

Auf Antrag des Herrn Prof. Dr. B. Walthard von der medizinischen Fakultät zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 4. März 1942.

Der Dekan der medizinischen Fakultät:
Prof. Dr. *A. von Muralt*

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderdruck aus
„Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin", 111. Bd., 1. Heft.

Springer-Verlag, Berlin W 9.

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Bern [Direktor: Prof. *C. Wegelin*], pathologisch-anatomischer Teil unter Leitung von Prof. *B. Walthard*, — und aus der Medizinischen Abteilung des Tiefenauspitals der Stadt Bern [Chefarzt: Dozent *W. Hadorn*]).

Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung hoher Insulindosen auf das Myokard von Kaninchen[1].

Von

A. Negri.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Dezember 1941.)

Nachdem *Sakel* im Jahre 1933 die Behandlung der Schizophrenie durch den Insulinshock eingeführt hatte, stellte sich auch die Frage, welche Gefahren für den Kreislauf diese Therapie in sich berge. *Hadorn* hat im Jahre 1936, gestützt auf ein umfangreiches Material, über die Wirkungen des hypoglykämischen Shocks auf das Herz, speziell auf das Elektrokardiogramm sowie auf die übrigen zirkulatorischen Verhältnisse berichtet. Als wichtigste Veränderungen des Elektrokardiogramms stellte er fest: Erhöhung der P-Zacke, Auftreten eines P-Pulmonale, Erhöhung der R- und S-Zacken, Verbreiterung von Q-R-S, P-Q-Verlängerung, Coronarsinusrhythmus, aurikuläre und ventrikuläre Extrasystolen, Verschiebung des S-T-Segmentes unter die Nullinie, Abflachung, Inversion und hoher Abgang der T-Zacke, Q-T-Verlängerung, U-Zacken. Obschon sich diese elektrokardiographischen Veränderungen mit wenigen Ausnahmen innerhalb von 2—5 Stunden restlos zurückbildeten, sind sie nach *Hadorn* doch als eine Schädigung des Herzens bzw. als eine, wenn auch nur vorübergehende, Beeinträchtigung seiner Funktion aufzufassen.

Anatomische Befunde über die Wirkung des Insulinshocks auf den Herzmuskel des Menschen liegen nicht vor; *Hadorn* und *Walthard* haben deshalb im Jahre 1938 versucht, durch Experimente am Kaninchen die Frage zu klären, ob den elektrokardiographischen Veränderungen ein anatomisches Substrat am Myokard entspricht.

Zur Verwendung kamen 52 Kaninchen von 1800 — 4200 g Gewicht. 42 Versuchstieren wurden, zum Teil wiederholt, subcutan, intravenös oder intramuskulär 100—400 Einheiten Insulin „Novo" — seltener auch Insulin „Sandoz" — eingespritzt. Die Unterbrechung des Shocks erfolgte durch perorale, intramuskuläre oder intravenöse Glykosezufuhr. Die Tiere wurden zum Teil im ersten Shock, zum Teil 24 Stunden nach dem ersten Shock oder nach täglich wiederholten Shockzuständen über eine Dauer bis zu 4 Wochen durch Nackenschlag getötet.

Da *Meessen* im selben Jahre (1938) bei 5 Kaninchen im hypoglykämischen Shock zahlreiche Herzmuskelfasernekrosen, besonders im linken Ventrikel, ge-

[1] Dissertation Bern.

funden hatte, behandelten *Hadorn* und *Walthard* 5 Tiere nach der Versuchsanordnung von *Meessen*, indem sie ihnen 60—200 Einh. Insulin intravenös injizierten und den Shock über 4—6 Stunden verfolgten, worauf er durch perorale oder intravenöse Gaben von Traubenzucker unterbrochen wurde.

5 Tiere wurden zur Kontrolle ohne Insulinverabreichung durch Nackenschlag getötet, um an ihnen allfällige Organveränderungen (Parenchymblutungen), die dem Nackenschlag zur Last fallen könnten, festzustellen.

Bei der pathologisch-anatomischen Untersuchung der Kaninchenherzen durch *Walthard* konnten jedoch weder bei den nach *Hadorn* und *Walthard* noch bei den nach *Meessen* behandelten Tieren Zeichen einer Myokardschädigung in Form von Fasernekrosen gefunden werden. Dagegen wiesen die histologischen Präparate von 4 Versuchs- und 2 Kontrolltieren entzündliche Erscheinungen in Form von herdförmigen Lymphocyteninfiltraten, teils in der Wand des Myokards, teils in den Papillarmuskeln, auf. Solche Myokardentzündungen kommen nach *Walthard* bei Kaninchen häufig vor; sie sind nach *Wegelin* und *Walthard* als Stallinfektion zu werten und stehen mit der Insulinverabreichung in keinem ursächlichen Zusammenhang. Diese Auffassung steht im Einklang mit den Befunden von *Miller*, der bei 34 untersuchten gesunden, erwachsenen Kaninchen, die während $3^1/_2$ Jahren zur Sektion kamen und aus verschiedenen Quellen stammten, in 20 Fällen interstitielle Infiltrate im Herzmuskel fand (1924). Die Infiltrate waren regelmäßig verteilt, traten am häufigsten in den Papillarmuskeln auf und bestanden entweder aus zwischen den Muskelfasern befindlichen Lymphocyten oder aus Makrophagenhaufen mit beigemischten Plasmazellen, eosinophilen Leukocyten und Bindegewebszellen. Herdförmig hatten die Muskelfasern ihre Querstreifung verloren. *Miller* nimmt als Ursache dieser Veränderungen eine milde Infektion an; er vermutet, daß auch bei den Versuchen von *Longcope*, *Wright* und *Craighead*, *de Vecchi* und *Natali* die gleichen Spontanveränderungen vorgelegen haben mögen.

Hadorn und *Walthard* kamen auf Grund ihrer Untersuchungen zu der Auffassung, daß weder die Insulinshockbehandlung noch die chronische Verabreichung von Insulin das Myokard von Kaninchen im Sinne einer anatomisch feststellbaren Schädigung der Muskelfasern beeinflußt. Den ziemlich schweren funktionellen Störungen, wie sie im Elektrokardiogramm im Anschluß an Insulininjektionen beobachtet werden können (*Hadorn* fand im Tierversuch Abflachung der T-Zacke, geringe Senkung der S-T-Strecke, Verbreiterung von Q-R-S, Auftreten von U-Zacken, Q-T-Veränderungen, Leitungsstörungen, Vorhofflimmern), entspricht somit sehr wahrscheinlich keine substantielle bzw. histologisch nachweisbare Veränderung.

Diese Befunde stimmen mit den von *Meyer* an Ratten gemachten Beobachtungen überein; die Ratten wurden während längerer Zeit täglich mit Insulin gespritzt, wiesen jedoch bei der histologischen Untersuchung des Herzens ebenfalls keine Nekrosen auf.

Im Jahre 1939 erschien dann eine Mitteilung des Amerikaners *Tannenberg* über anatomische Veränderungen im Herzmuskel von Kaninchen nach wiederholtem Insulinshock; der Autor hatte in der Herz- und Skeletmuskulatur der Versuchstiere, auch wenn durch das Insulin keine Krämpfe hervorgerufen worden waren, zahlreiche hydropische Veränderungen und einige kleine Nekroseherde festgestellt. Die Hinterwand des linken Ventrikels und ihre Papillarmuskeln wurden am häufigsten davon betroffen. Diese Veränderungen des Myokards waren im allgemeinen reversibel; nur in Ausnahmefällen kam es zu kleinen Nekrosen des Herzmuskels. Häufiger fanden sich jedoch irreversible Veränderungen in der Skeletmuskulatur, hauptsächlich im Iliopsoas, welche durch Brechen einzelner Muskelfasern vom frischen Stadium bis zur Verkalkung feststellbar waren. Bei einem Kaninchen wurden schmale Herde von Rundzelleninfiltration um eine nekrotische Muskelzelle gefunden, welche mit Phagocyten infiltriert war; *Tannenberg* ist der Auffassung,

daß sich die von ihm festgestellten Entzündungsherde durch diese Anordnung von den *Miller*schen Entzündungsherden grundsätzlich unterscheiden.

Tannenberg kam auf Grund seiner Untersuchungen zu der Feststellung, daß die Empfindlichkeit der Kaninchen auf Insulin individuell außerordentlich verschieden sei.

Campailla hat 1939 bei Kaninchen nach den für die Behandlung von Schizophrenen geltenden Regeln täglich Insulinshocks hervorgerufen (5—61 Shocks), worauf die inneren Organe auf Veränderungen untersucht wurden. Der Autor fand am Herzen geringfügige Erscheinungen von trüber Schwellung und fettiger Entartung.

Das Problem wurde 1940 von *Meessen* erneut aufgegriffen. In einer eingehenden Studie berichtet der Autor über seine elektrokardiographischen und anatomischen Untersuchungen an 25 Kaninchen, die er einem einmaligen schweren Insulinshock unterwarf. 23 Tiere erhielten 40 bis 400 Einh. Insulin „Höchst" intravenös, teilweise in verzettelten Dosen; 2 Tieren wurden je 60—80 Einh. Insulin „Höchst" subcutan gespritzt. 9 Kaninchen gingen im hypoglykämischen Shock zugrunde; sie zeigten bei der pathologisch-anatomischen Untersuchung des Herzmuskels keine Veränderungen. Die übrigen Versuchstiere wurden 24 Stunden nach dem Shock durch Luftembolie getötet.

An Veränderungen des Elektrokardiogramms während und nach dem Insulinshock werden von *Meessen* beschrieben: Senkung der S-T-Strecke in Abl. I und II, gelegentlich mit gleichzeitig erhöhtem Abgang in Abl. III, Reizleitungsstörungen, Extrasystolien, Bigeminien, Erhöhung der P-Zacke in Abl. II und III. In 2 Fällen fand sich eine schenkelblockähnliche und in 1 Fall eine an Herzhinterwandinfarkt erinnernde Kurve.

Bei der anatomischen Untersuchung beobachtete *Meessen* bei allen Tieren mit einer Ausnahme disseminierte, meistens etwa gleichmäßig über den rechten und linken Ventrikel verteilte Nekrosen; vereinzelt waren die Nekrosen entsprechend dem elektrokardiographischen Befund vorwiegend im rechten Ventrikel lokalisiert. In 1 Fall waren auch in der Vorhofsmuskulatur Nekrosen vorhanden. Keine Myokardnekrosen zeigte allein das mit 60 Einh. Insulin subcutan gespritzte Tier; das zweite subcutan gespritzte Kaninchen gehört zu den akut im Shock eingegangenen.

Diese letzten Untersuchungsbefunde von *Meessen* haben uns veranlaßt, auf die Frage der Veränderungen im Herzmuskel im, bzw. nach dem Insulinshock zurückzukommen. Damit ist der Zweck der vorliegenden Arbeit dargetan. Unsere Versuche sollten zudem gegenüber früheren dahin erweitert werden, daß auch sehr hohe und höchste Insulindosen Verwendung finden sollten, wie sie weder bei der Insulinshockbehandlung der Schizophrenie und anderer Psychosen, noch bei Diabetes mellitus — hier unter ganz anderen Blutzuckerverhältnissen — benutzt werden.

Eigene Untersuchungen.

I. Versuchsmaterial und Methodik.

Die Versuche wurden an 11 Kaninchen (Nr. 201—211) im Gewichte von 1900 bis 3500 g vorgenommen; die Tiere erhielten, meist in einmaliger Dosis, 120—1000 Einh. Insulin intravenös injiziert. Einem Kaninchen wurden 1000 Einh. intravenös und am folgenden Tag noch 1000 Einh. subcutan eingespritzt. 3 Versuchstieren wurden neben den intravenösen auch subcutane Spritzen verabfolgt. Zur Verwendung kamen die Insulinpräparate „Bayer" und „Novo"; K. 210 erhielt beide Präparate, K. 207 nur Insulin „Bayer"; die übrigen Tiere wurden alle mit dem dänischen Insulin „Novo" behandelt.

Die Kaninchen wurden vor dem Versuchsbeginn während mehreren Stunden bis zu 2 Tagen nüchtern gehalten und erhielten während des ganzen Versuchsablaufes keinerlei Futter. Die Unterbrechung des Shocks erfolgte nach einer bis mehreren Stunden Dauer durch intravenöse, perorale oder subcutane Verabreichung von 20—60 ccm einer 20—50%igen Glykoselösung.

2 Kaninchen starben 16 und 28 Stunden nach Versuchsbeginn im Shock. K. 211 ging an allgemeiner Schwäche und Inanition zugrunde und bei einem weiteren Versuchstier konnte der Zeitpunkt des Todes nicht genau festgestellt werden. Die übrigen Kaninchen wurden alle durch Luftembolie getötet, und zwar 30—48 Stunden nach der 1. Insulininjektion.

Das Elektrokardiogramm [1] wurde vor Beginn und wiederholt während des Versuches in den 3 üblichen Extremitätenableitungen nach *Einthoven* geschrieben. Zur Ableitung der Stromkurve dienten unter die Haut der beiden Vorder- und des linken Hinterlaufes gesteckte Nadelelektroden. Die Kaninchen wurden für die einzelnen elektrokardiographischen Untersuchungen in üblicher Weise auf das Kaninchenbrett aufgespannt und dort im allgemeinen während $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde festgehalten. 5 Kaninchen blieben im Anschluß an die erste elektrokardiographische Aufnahme länger aufgespannt, und zwar K. 202 1 Stunde, K. 203 2 Stunden, K. 210 $2^1/_2$ Stunden, K. 205 5 Stunden und K. 201 7 Stunden.

Die Kaninchenherzen wurden nach Fixierung in 10%iger Formalinlösung teils nach der Gefriermethode, teils nach vorherigem Einbetten in Paraffin in Stufen geschnitten; von jedem Herzen wurden aus allen Teilen, Ventrikeln und Vorhöfen, zahlreiche Schnitte (100—200) untersucht. Die Färbung der Schnitte erfolgte mit Hämalaun-Eosin, Scharlach und *van Gieson*.

Kontrolltiere. 8 Kaninchen im Gewichte von 1850—2700 g, die kein Insulin erhielten und, mit einer Ausnahme, auch nicht aufgespannt wurden, dienten als Kontrolltiere; sie wurden ebenfalls durch Luftembolie getötet, und die Herzen gelangten auf die oben beschriebene Weise zur pathologisch-anatomischen Untersuchung.

Diese Kontrolluntersuchungen waren aus verschiedenen Gründen nötig: einmal sollten unsere früheren Befunde über die bei Kaninchen recht häufig vorkommenden Myokarditiden als Stallinfektion neu geprüft werden. Sodann hatten andererseits die außerordentlich wichtigen Versuchsergebnisse von *Veith* (1940) die ungewöhnliche Kreislauflabilität der Kaninchen dargetan, deren Bestätigung für unsere gegenwärtigen Versuche von größtem Interesse sein mußte.

Veith konnte nach Narkose oder Lokalanästhesie mit nachfolgender Freilegung der Arteria carotis communis und Einbinden der Blutdruckkanüle beim Kaninchen ausgedehnte, vorwiegend in der Muskulatur des linken Ventrikels gelegene Ne-

[1] Für die elektrokardiographischen Untersuchungen kamen 2 Apparate zur Verwendung: der transportable Verstärkerröhren-Elektrokardiograph von Siemens (mit Wechselspannungsverstärker), und der Universaldreischleifen-Elektrokardiograph der Firma Siemens, für die simultane Aufzeichnung der 3 Ableitungen.

krosen finden. Die zur Klärung dieser Befunde angestellten weiteren Kontrolluntersuchungen ergaben, daß bereits das wiederholte, in geringerem Grade auch das einmalige Aufspannen des Kaninchens auf dem Kaninchenbrett zu Durchblutungsstörungen des Herzmuskels führen kann. Die Durchblutungsstörungen äußerten sich in einer Nekrosenbildung hauptsächlich im linken Ventrikel. Zahl und Ausdehnung der Nekrosen zeigten sich bei den verschiedenen Tieren ganz unterschiedlich groß, erreichten aber im allgemeinen nicht die Dichte wie sie *Büchner, Meessen, Taterka, Schirrmeister, Walder* und *Christ* bei ihren Untersuchungen über die experimentelle Coronarinsuffizienz beim Kaninchen gefunden hatten.

II. Versuchsergebnisse.

A. Untersuchungen an 11 mit Insulin behandelten Kaninchen.

K. 201. Gewicht 2190 g. Innerhalb 3 Stunden 3 Spritzen mit insgesamt 1000 Einh. Insulin „Novo" intravenös. Leichte Krämpfe; nach 10 Stunden vollständiger Shockzustand. — Tötung durch Luftembolie, 48 Stunden nach Versuchsbeginn. K. 201 wurde 3mal aufgespannt (7, $^3/_4$, $^1/_4$ Stunde).

Elektrokardiogramm: Vor dem Versuch normales Ekg; nachher Abflachung der T-Zacken bzw. vorübergehendes Unsichtbarwerden von T_1.

Pathologisch-anatomischer Befund: In der Muskulatur des rechten Ventrikels perivasculäre Infiltrate von Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten. In der Muskulatur des linken Ventrikels *Schwielen* aus zellreichem bis zellarmem, stellenweise ziemlich gefäßreichem Bindegewebe sowie einzelne kleine herdförmige Infiltrate von Lymphocyten.

K. 202. Gewicht 3500 g. Injektion von 400 Einh. Insulin „Novo" intravenös. Nach 4 Stunden leichter Krampfanfall. — Tötung durch Luftembolie, 33 Stunden nach Versuchsbeginn. K. 202 wurde 3mal aufgespannt (1, $^1/_4$, $^1/_4$ Stunde).

Elektrokardiogramm: Vor dem Versuch: Isoelektrisches T_3. Nachher: T_1 und T_2 flacher; das vorher unsichtbare T_3 wird deutlich positiv.

Pathologisch-anatomischer Befund: In der Wand des linken Ventrikels herdförmige Infiltrate von Lymphocyten und pseudo-eosinophilen Leukocyten. In den Papillarmuskeln des linken Ventrikels frische Fasernekrosen (Abb. 1). In den Papillarmuskeln ferner herdförmige Infiltrate von Lymphocyten und pseudo-eosinophilen Leukocyten, zum Teil in perivasculärer Anordnung. In der Wand des linken Ventrikels ein frischer Nekroseherd. Im rechten Ventrikel perivasculäre Infiltrate von Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten, desgleichen in der Muskulatur der Vorhöfe.

K. 203. Gewicht 2440 g. Injektion von 1000 Einh. Insulin „Novo" intravenös. Keine Krämpfe. 5 Stunden später kein Blutzucker mehr nachweisbar; am nächsten Tag Blutzucker 55 mg-%. Das Kaninchen erhielt in der Zwischenzeit keinerlei Nahrung. — 2. Spritze von 50 Einh. Insulin „Novo" subcutan. Darauf schwerste Krämpfe. — Tötung durch Luftembolie, 47 Stunden nach Versuchsbeginn. K. 203 wurde 4mal aufgespannt (2, $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_4$ Stunde).

Elektrokardiogramm: Vor Insulin normale Verhältnisse. Nachher: T_1 wird nach vorübergehender Überhöhung negativ; T_2 und T_3 werden höher. Senkung von S-T_1.

Pathologisch-anatomischer Befund: In der Wand des linken Ventrikels kleinste *Fasernekrosen*, umgeben von Lymphocyten, pseudoeosinophilen Leukocyten und epitheloiden Zellen. In der Wand des linken und rechten Ventrikels ferner herdförmige Infiltrate von Lymphocyten und pseudo-

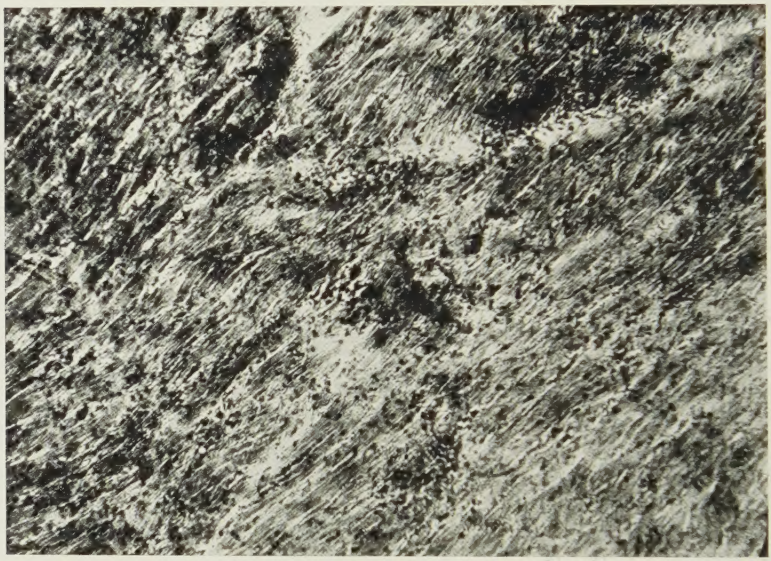

Abb. 1. K. 202. Vergr. 100mal. Hämalaun-Eosinfärbung. Kaninchen dreimal aufgespannt; 400 Einheiten Insulin „Novo" intravenös. Versuchsdauer 33 Stunden. Tod durch Luftembolie. Zahlreiche Fasernekrosen im Myokard des linken Ventrikels.

eosinophilen Leukocyten. In der Vorhofsmuskulatur einzelne *Fasernekrosen.*

K. 204. Gewicht 2540 g. Injektion von 1000 Einh. Insulin „Novo" intravenös. Muskelkrämpfe mittlerer Stärke. Nach 7 Stunden schwerste Krämpfe. Tötung durch Luftembolie, 48 Stunden nach Versuchsbeginn. K. 204 wurde 4mal aufgespannt ($^1/_4$, $^1/_4$, $^1/_4$, $^1/_4$ Stunde).

Elektrokardiogramm: Vor dem Versuch normales Ekg. Nach der Insulininjektion T_1, $_2$ und $_3$ abgeflacht, jedoch nie negativ.

Pathologisch-anatomischer Befund: In der Wand des linken Ventrikels sowie in vereinzelten Papillarmuskeln kleine Herde von zellreichem Bindegewebe sowie herdförmige Infiltrate von Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten. In der Muskulatur des rechten Ventrikels dieselben Veränderungen wie links.

K. 205. Gewicht 3100 g. Vor der Injektion von 1000 Einh. Insulin „Novo" intravenös beträgt der Blutzucker 275 mg-%, 7 Stunden später

40 mg-%. Am nächsten Tag steigt der Blutzucker wieder auf 105 mg-%. 2., diesmal subcutane Injektion von 1000 Einh. Insulin. Schwerste Muskelkrämpfe. Blutzucker 0 mg-%. Exitus im Shock 28 Stunden nach Versuchsbeginn. K. 205 wurde 2mal aufgespannt (5, $^1/_2$ Stunde).

Elektrokardiogramm: Vor dem Versuch: Biphasisches T_3. Nachher: Leichte Abflachung von T_1 und Tieferwerden von Q_1.

Pathologisch-anatomischer Befund: Linker Ventrikel: Subepikardial kleine Herde von Granulationsgewebe. In der Wand des linken Ventrikels herdförmige Infiltrate von Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten; ferner finden sich einzelne kleine Fasernekrosen. An einer Stelle eine Schwiele aus ziemlich zellreichem Bindegewebe.

K. 206. Gewicht 2500 g. Injektion von 1000 Einh. Insulin „Novo" intravenös. Nach 5 Stunden schwerer Shock mit starken Krämpfen. Exitus in der folgenden Nacht, sicher mehr als 7 Stunden nach Versuchsbeginn. K. 206 wurde 3mal aufgespannt.

Elektrokardiogramm: Das Ekg vor dem Versuch zeigt ein Lävogramm: Q-R-S_2 und $_3$ sind aufgesplittert. Nachher findet sich als einzige Veränderung eine leichte Senkung von S-T_1 und $_2$.

Pathologisch-anatomischer Befund: In der Muskulatur stark erweiterte Blutgefäße, zum Teil mit vermehrten und randständigen Leukocyten.

K. 207. Gewicht 2070 g. Injektion von 120 Einh. Insulin „Bayer" intravenös. Shock mit mittelstarken Krämpfen. Tötung durch Luftembolie, 30 Stunden nach Versuchsbeginn. K. 207 wurde 4mal aufgespannt ($1^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_4$, $^1/_4$ Stunde).

Elektrokardiogramm: Das Ekg vor dem Versuch zeigt ein Dextrogramm mit flach positivem T_2 und spitz negativem T_3. Nachher zeigt sich als charakteristische Veränderung ein noch Tiefer- und Spitzerwerden von T_3.

Pathologisch-anatomischer Befund: In den Papillarmuskeln des linken Ventrikels zahlreiche herdförmige Infiltrate von Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten; ferner finden sich Fasernekrosen.

K. 208. Gewicht 1900 g. Injektion von 500 Einh. Insulin „Novo" intravenös. Um Krämpfe zu vermeiden, wird dem Tier intravenös und per os Glykose zugeführt. Tötung durch Luftembolie, $30^1/_2$ Stunden nach Versuchsbeginn. K. 208 wurde 4mal aufgespannt ($^1/_2$, $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_2$ Stunde).

Elektrokardiogramm: Normales Vorversuchs-Ekg. Nachher: Zuerst wird T_3 biphasisch, nach Glykosezufuhr dann spitz negativ. S-T_1 und $_2$ erscheinen erst nach erfolgter Traubenzuckerzufuhr muldenförmig gesenkt.

Pathologisch-anatomischer Befund: Linker Ventrikel: Subendokardial kleine Infiltrationsherde von Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten. In der Muskulatur des rechten Ventrikels diffuse und herdförmige Infiltrate von Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten. Keine frischen Nekrosen.

K. 209. Gewicht 2950 g. Injektion von 500 Einh. Insulin „Novo" intravenös. Nach 4 Stunden weitere 50 Einh. Insulin subcutan. Darauf während 7 Min. starke Krämpfe. Nach total 5 Stunden 3. Injektion von 20 Einh. Insulin subcutan. Unterbrechung des Shocks. Am nächsten Tage starke Krämpfe. Exitus im Shock, $16^1/_2$ Stunden nach Versuchsbeginn. K. 209 wurde 4mal aufgespannt ($^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_4$, $^1/_4$ Stunde).

Elektrokardiogramm: Vor Versuchsbeginn: Dextrogramm, sonst normal. Nachher: T_3 wird flacher; erst nach erfolgter Glykosezufuhr tritt eine Senkung von S-T_1 ein.

Pathologisch-anatomischer Befund: In der Muskulatur des linken Ventrikels vereinzelte perivasculäre Infiltrate von Lymphocyten. Keine Nekrosen.

K. 210. Gewicht 2000 g. Injektion von 500 Einh. Insulin „Bayer" intravenös. Nach 4 Stunden nochmals 50 Einh. Insulin „Bayer" subcutan. Keine Krämpfe. Erst am nächsten Tage Krämpfe mittlerer Stärke, später starke Krämpfe. Unterbrechung des Shocks. Hierauf nochmals 100 Einh. Insulin „Novo" subcutan, ohne daß Krämpfe auftreten. Tötung durch Luftembolie, $48^1/_2$ Stunden nach Versuchsbeginn. K. 210 wurde 5mal aufgespannt ($2^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_2$, $^1/_2$, $^1/_4$ Stunde).

Elektrokardiogramm: Vor dem Versuchsbeginn negatives P_3 und T_3. 1 Stunde nach 500 Einh. Insulin „Bayer" werden T_1 und T_2 höher; nach weiteren 50 und 100 Einh. Insulin subcutan wird das zu Beginn negative T_3 flach positiv.

Pathologisch-anatomischer Befund: In der Wand des linken Ventrikels spärliche, zum Teil streifenförmige perivasculäre Infiltrate von Lymphocyten, pseudoeosinophilen und hie und da auch neutrophilen Leukocyten. Ferner finden sich auch vereinzelte herdförmige Infiltrate in den Papillarmuskeln, sowie namentlich an der Grenze der Muskulatur des linken und rechten Ventrikels. Keine Nekrosen.

K. 211. Gewicht 2800 g. Injektion von 300 Einh. Insulin „Novo" intravenös. 3 Stunden später schwere Krämpfe, die sich nach einer weiteren Stunde wiederholen. Unterbrechung des Shocks. Am nächsten Tage weitere 300 Einh. Insulin „Novo" intravenös. 4 Stunden später mittelstarke Krämpfe. Spontanexitus 47 Stunden nach Versuchsbeginn. K. 211 wurde 5mal aufgespannt ($^1/_4$, $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_4$, $^1/_2$ Stunde).

Elektrokardiogramm: Normales Vorversuchs-Ekg. Nachher: Die R-Zacke ist in allen Ableitungen erhöht; T_3 wird nach erfolgter Glykosezufuhr negativ.

Pathologisch-anatomischer Befund: Im linken Ventrikel perivasculäre herdförmige Infiltrate von Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten. In der Muskulatur des rechten Ventrikels kleinere und größere Schwielen. Keine Fasernekrosen.

B. Untersuchungen an 8 Kontrolltieren, die nicht mit Insulin behandelt und (mit einer Ausnahme) nicht aufgespannt wurden.

K. 192. Gewicht 1580 g. Kein Insulin, kein Aufspannen. Tötung durch Luftembolie.

Pathologisch-anatomischer Befund: In den Papillarmuskeln des linken Ventrikels zahlreiche Schwielen; diese zeigen eine Anordnung und Form, wie sie im Anschluß an Fasernekrosen entstanden sein können. Im linken und rechten Ventrikel ferner einige frischere Fasernekrosen, umgeben von Fibroplasten, Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten.

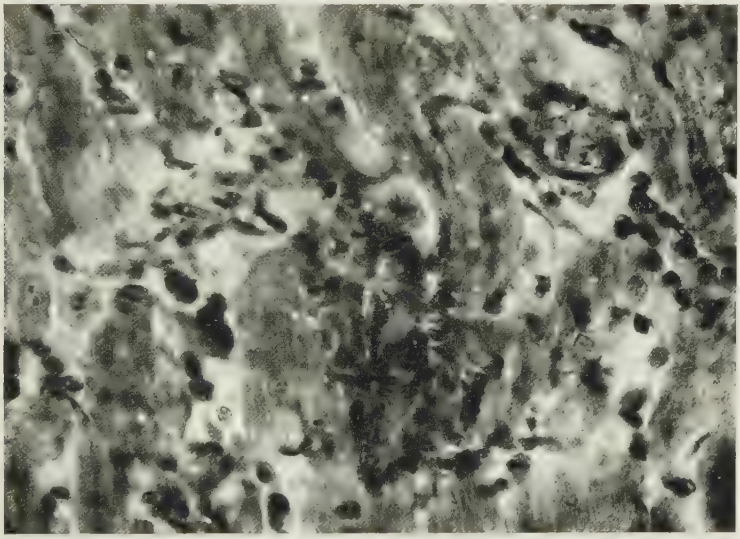

Abb. 2. Kontr.-K. 193. Vergr. 420mal. Hämalaun-Eosinfärbung. Kaninchen zweimal je 1 Stunde aufgespannt. Kein Insulin. Tod durch Luftembolie, 27 Std. nach Versuchsbeginn. Fasernekrose in der Muskulatur des linken Ventrikels; an die nekrotische Faser angelagert geschwellte Fibroplasten und Lymphocyten.

K. 193. Gewicht 2300 g. Kein Insulin. 2mal je 1 Stunde aufgespannt. Tötung durch Luftembolie, 27 Stunden nach dem ersten Aufspannen.

Pathologisch-anatomischer Befund: In der Muskulatur des linken Ventrikels zahlreiche perivasculäre Infiltrate von Lymphocyten und spärlichen pseudoeosinophilen Leukocyten. In einigen Papillarmuskeln kleine Fasernekrosen (Abb. 2, 3). In der Wand des linken Ventrikels kleine Schwielen (Abb. 4).

K. 194. Gewicht 1950 g. Kein Insulin, kein Aufspannen. Tötung durch Luftembolie.

Pathologisch-anatomischer Befund: Subepikardial im linken und rechten Ventrikel herdförmige Infiltrate von Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten. In den Papillarmuskeln des linken Ventrikels sowie in der Wand des rechten Ventrikels Fasernekrosen.

Abb. 3. Kontr.-K. 193. Vergr. 200mal. Hämalaun-Eosinfärbung. Kaninchen zweimal je 1 Stunde aufgespannt. Kein Insulin. Tod durch Luftembolie, 27 Std. nach Versuchsbeginn. Fasernekrose in der Muskulatur des linken Ventrikels. Im Bereich der Fasernekrose massenhaft geschwellte Fibroplasten, Lymphocyten und pseudoeosinophile Leukocyten.

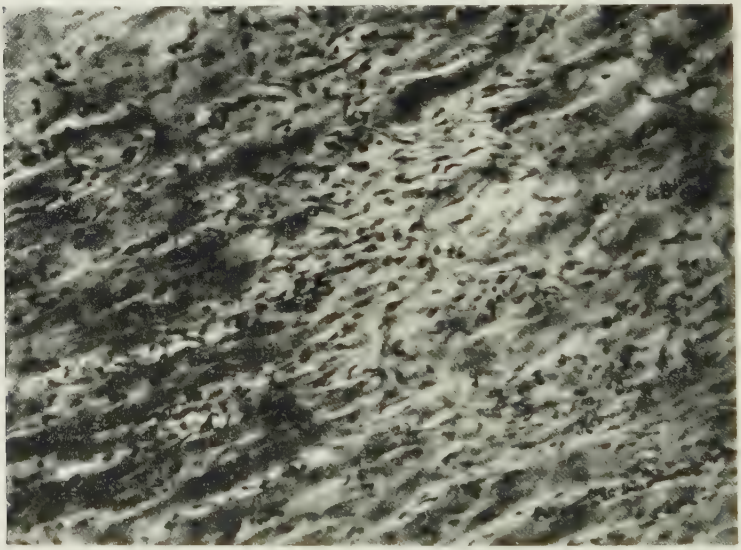

Abb. 4. Kontr.-K. 193. Vergr. 200mal. Hämalaun-Eosinfärbung. Kaninchen zweimal je 1 Stunde aufgespannt. Kein Insulin. Tod durch Luftembolie, 27 Std. nach Versuchsbeginn. Myokardschwiele im linken Ventrikel.

K. 195. Gewicht 2550 g. Kein Insulin, kein Aufspannen. Tötung durch Luftembolie.

Pathologisch-anatomischer Befund: Unter dem Epikard sowie in der Wandmuskulatur einige herdförmige Infiltrate von Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten sowie einzelne kleine Granulomherde. Keine Fasernekrosen.

K. 196. Gewicht 2700 g. Kein Insulin, kein Aufspannen. Tötung durch Luftembolie.

Pathologisch-anatomischer Befund: In der Wand des linken Ventrikels herdförmige Infiltrate von Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten, ferner kleine Herde mit Faserzerfall. An einzelnen Stellen frischer Faserzerfall.

K. 197. Gewicht 2600 g. Kein Insulin, kein Aufspannen. Tötung durch Luftembolie.

Pathologisch-anatomischer Befund: In der Wand des linken Ventrikels perivasculäre Infiltrate. Keine sicheren Fasernekrosen.

K. 198. Gewicht 2600 g. Kein Insulin, kein Aufspannen. Tötung durch Luftembolie.

Pathologisch-anatomischer Befund: Im linken Ventrikel herdförmige kleinere und größere Infiltrate von Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten. Keine sicheren Fasernekrosen. In der Wand des rechten Ventrikels herdförmige, zum Teil streifenförmige Infiltrate und einzelne Fasernekrosen.

K. 199. Gewicht 2700 g. Kein Insulin. Kein Aufspannen. Tötung durch Luftembolie.

Pathologisch-anatomischer Befund: In der inneren Schicht der Wandmuskulatur des linken Ventrikels Zerfall von Muskelfasern und Ersatz durch Fibroplasten und epitheloide Zellen. Perivasculäre Infiltrate von Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten. In der Spitze der Papillarmuskeln Blutungen.

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse.

1. Verhalten der Versuchstiere im Shock.

Von den 5 Tieren (K. 201, 203, 204, 205, 206) von 2000—3000 g Gewicht, denen in einmaliger Dosis 1000 Einh. Insulin „Novo" injiziert worden waren, traten bei K. 201, 203 und 205 wohl leichte hypoglykämische Symptome wie Mattigkeit, Schläfrigkeit, Zittern und Schwäche auf, doch setzten keine eindeutig erkennbaren Muskelkrämpfe ein, so daß von einem eigentlichen hypoglykämischen Shock nicht gesprochen werden konnte. 2 Tiere wurden deshalb am nächsten Tage nochmals, diesmal subcutan, mit Insulin „Novo" gespritzt (K. 203 mit 50 Einh., K. 205 mit 1000 Einh.), worauf beide Kaninchen in heftigste Krämpfe verfielen.

Bei K. 203 ergab die Untersuchung 5 Stunden nach der intravenösen Injektion von 1000 Einh. Insulin einen nicht mehr meßbaren niedersten Blutzuckergehalt. Bei K. 205 betrug der Blutzucker vor dem Versuch 275 mg-%, 2 Stunden nach der intravenösen Injektion von 1000 Einh. Insulin noch 95 mg-%, nach 4 Stunden 45 mg-% und nach 7 Stunden 40 mg-%; am folgenden Morgen war der Zuckergehalt wiederum auf 105 mg-% angestiegen. Während der dann auf die subcutane Injektion von weiteren 1000 Einh. Insulin auftretenden schweren Krämpfe war praktisch kein Blutzucker mehr nachweisbar.

2. Elektrokardiographische Untersuchungen.

Aus den zahlreichen Elektrokardiogrammen traten am eindrücklichsten die Veränderungen der T-Zacke hervor: diese Zacke findet sich nach Insulin in den meisten Fällen abgeflacht, oft nur in einer, vereinzelt auch in allen 3 Ableitungen. Neben der Abflachung und Inversion der T-Zacke konnte auch eine Erhöhung derselben in allen Ableitungen beobachtet werden (Erstickungs-T?). Im allgemeinen waren diese Veränderungen der Nachschwankung reversibel; nur in wenigen Fällen war am Schlusse des Versuches das Ausgangsbild noch nicht ganz erreicht.

Als weitere Veränderungen wurden leichte Senkungen der S-T-Strecke unter die Nullinie in den Ableitungen I und II festgestellt, ferner Vergrößerung der P-, R- und S-Zacken und Verkleinerung der R-Zacke; auch eine Verstärkung des schon zu Beginn des Versuches bestehenden tiefen Q war gelegentlich zu finden. Extrasystolen wurden nicht beobachtet; ebenso sind Reizleitungsstörungen nirgends in Erscheinung getreten.

3. Pathologisch-anatomische Befunde.

a) An den mit Insulin behandelten Tieren. Die pathologisch-anatomische Untersuchung des *Herzmuskels* ergab bei 4 von 11 Versuchstieren typische Fasernekrosen in den Papillarmuskeln und der Wand des linken Ventrikels (Abb. 1), bei einem Tier auch in der Vorhofsmuskulatur. 6 Kaninchen, welchen die gleichen, außerordentlich hohen Insulindosen (bis 2000 Einh.) injiziert worden waren, zeigten keine Nekrosenbildung. K. 206 ging zugrunde, bevor sich Nekrosen hätten entwickeln können.

Mit einer Ausnahme (K. 206) fanden sich bei allen Versuchstieren in den Papillarmuskeln und der Wand beider Ventrikel diffuse oder herdförmige, vereinzelt auch streifenförmige, meist perivasculär angeordnete Infiltrate aus Lymphocyten und pseudocosinophilen Leukocyten, teilweise mit gewucherten Fibroplasten. In 3 Fällen (K. 201, 205, 211) ließ sich im Myokard eine Schwielenbildung nachweisen.

b) An den Kontrolltieren. Von den 8 Kontrolltieren, denen kein Insulin verabreicht worden war, wiesen 4 Kaninchen in den Papillarmuskeln und in der Wand des linken wie des rechten Ventrikels ebenfalls Fasernekrosen mit angelagerten Fibroplasten, Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten auf (Abb. 2, 3 und 4).

Nur eines dieser Kontrolltiere (K. 193) war (2mal je 1 Stunde) auf das Kaninchenbrett aufgespannt worden; bei diesem Tier fanden sich in der Wand des linken Ventrikels auch kleine Schwielen aus eher zellarmem, zum Teil hyalinem Bindegewebe (Abb. 4). Kaninchen 192 dagegen, das nicht aufgespannt worden war, wies eine ausgedehnte Schwielenbildung in den Papillarmuskeln und der Wand des linken Ventrikels auf; die Schwielen könnten nach Form und Art der Anordnung auf Fasernekrosen zurückgeführt werden.

Bei sämtlichen Tieren dieser Gruppe ließen sich im Myokard verschiedene Grade von chronischer Entzündung, zum Teil mit Granulombildung, feststellen.

Erörterung der Versuchsergebnisse.

1. Elektrokardiographische Veränderungen.

Die in unseren Versuchen festgestellten Veränderungen des Elektrokardiogramms stimmen mit den von *Hadorn* in früheren Tierversuchen und beim Menschen erhobenen Befunden überein und sollen, da sie außer den bereits ausführlich beschriebenen keine neuen Gesichtspunkte eröffnen, hier nicht weiter besprochen werden. Zu erwähnen bleibt höchstens, daß die Veränderungen des Elektrokardiogramms in den diesjährigen Versuchen auffällig gering ausfielen. Es mag dieser Unterschied im elektrokardiographischen Befund vielleicht daher rühren, daß die Kaninchen diesmal weniger lang gefastet hatten als die Kaninchen früherer Versuchsserien. *Meessen* hatte in seinen Untersuchungen zwar gleichartige, jedoch bedeutend stärker ausgeprägte Veränderungen gefunden, wie wir sie auch bei sehr hohen Insulindosen nicht beobachten konnten.

Nach *Hadorn* sind die nach Insulin festgestellten Veränderungen trotz ihrer reversiblen Natur als Ausdruck einer Myokardschädigung bzw. einer, wenn auch nur vorübergehenden, Beeinträchtigung der Herzfunktion zu deuten, wobei ätiologisch Hypoglykämie, Insulinwirkung, Anoxämie, Änderung der Elektrolyte und Entwässerung dafür verantwortlich zu machen sind.

2. Beziehungen zwischen Insulindosis, Blutzuckergehalt und Krampfbereitschaft.

Rätselhaft und neu war für uns die Beobachtung, daß bei den 5 Kaninchen, die mit den riesigen Dosen von 1000 Einh. Insulin gespritzt

worden waren, in 3 Fällen nur leichte hypoglykämische Symptome in Erscheinung traten, im Gegensatz zu unseren früheren Versuchen, wo bei viel niedrigeren intravenösen Dosen von durchschnittlich 20 bis 60 Einh. Insulin regelmäßig Krämpfe aufgetreten waren. Dieser Befund findet vielleicht eine gewisse Parallele in der von *M. Müller* (Münsingen) [1] gemachten Beobachtung, wonach bei der Insulinshockbehandlung der Schizophrenie oft mit den größten der üblichen Dosen (300—400 Einh.), wiederholt injiziert, kein Shock zu erzielen war, während dann eine nachfolgende kleine Dosis einen ausgeprägten Shockzustand auslöste. Wir haben bei unseren Tierversuchen bei den auf große Dosen nicht reagierenden Fällen das Auftreten von Krämpfen gewöhnlich damit erreicht, daß wir nachträglich, d. h. einige Stunden oder einen Tag später, noch eine kleine Dosis von 50—100 Einh. subcutan einspritzten (K. 205, 209, 210), wobei jedoch nicht außer acht zu lassen ist, daß diese Kaninchen bei der 2. oder 3. Einspritzung auch schon entsprechend länger gefastet hatten.

Eine Abhängigkeit des zeitlichen Eintrittes und der Stärke der Muskelkrämpfe von der Höhe der Insulindosis ist, wie aus dem oben Gesagten hervorgeht, aus unseren Versuchen nicht zu erkennen. Auch *Tannenberg, Sigwald* u. a. m. machten in ihren Versuchen die Beobachtung, daß einige Kaninchen trotz hoher Insulindosen keine Krämpfe, und andere bei geringen Dosen starke Krämpfe aufwiesen. Dagegen neigen wir nach unseren Beobachtungen zu der Annahme, daß die subcutane Verabfolgung des Insulins seine größere Krampfwirkung ausübt als die intravenöse; auch *Allan* gibt an, daß sich intravenöse Insulininjektionen als viel weniger wirksam erwiesen hätten als subcutane.

Man kann sich auch fragen, inwieweit das vorausgehende Hungern der Versuchstiere die Krampfbereitschaft zu beeinflussen vermag. Wir haben zu Kontrollzwecken in den letzten Tagen nochmals 3 Kaninchen, die 43 Stunden gefastet hatten, mit großen Dosen Insulin (400, 1000, 1000 Einh.) intravenös gespritzt. Bei allen 3 Tieren traten starke Krämpfe auf; die beiden mit 1000 Einh. gespritzten Tiere gingen im Versuch an Atemstillstand zugrunde. Daraus wäre zu schließen, daß das vorangehende Hungern der Versuchstiere die Krampfbereitschaft erhöht.

Dieser Auffassung sind auch die Autoren *Tannenberg, Macleod* und *Sigwald*, welche die immer noch etwas undurchsichtigen Zusammenhänge zwischen dem Blutzuckerspiegel und dem Auftreten der Muskelkrämpfe eingehend studiert haben. Nach *Tannenberg* hängt das Auftreten von Krämpfen mehr von der Insuffizienz des Organismus ab, den Blutzuckerspiegel aus den Reserven innerhalb einer gewissen Zeit (etwa 1 Stunde) auszugleichen, als vom anfänglichen tiefen Abfall des Blutzuckers selber; wichtig wäre demnach vor allem die Dauer des Tiefstandes des Blutzuckerspiegels, und nicht in erster Linie die Raschheit des Blutzuckerabfalls. *Macleod* vertritt die Auffassung, daß es die Konzentration oder Spannung des Traubenzuckers in den Nervenzellen ist, die für die hypoglykämischen Symptome verant-

[1] Nach einer mündlichen Mitteilung.

wortlich gemacht werden muß, und daß diese viel eher mit dem Blutzucker parallel laufe, wenn der letztere sich nicht so schnell verändert. Bei wohlgenährten Tieren werde dem anfänglichen Blutzuckerabfall durch Zuckermobilisation aus den Glykogenspeichern entgegengewirkt, weshalb der Blutzucker dann langsam bis zur Krampfgrenze abfalle, so daß in dieser Zeit eine vollkommene Diffusion zwischen dem Blut und den Gewebsflüssigkeiten eintreten könne. Bei Hungertieren dagegen falle der Blutzucker nach dem anfänglichen Sturz ziemlich rasch bis unter die Krampfgrenze weiter, so daß innerhalb dieser Zeitspanne die Diffusion aus den Geweben nicht erfolgen könne. *Macleod* gibt in diesem Zusammenhange ferner zu bedenken, daß, abgesehen von diesen Faktoren, die Tatsache nicht außer acht zu lassen sei, daß die einen Kaninchen mehr zu Krämpfen neigen als andere. *Sigwald* kommt ebenfalls zum Schluß, daß die hypoglykämischen Symptome weder von der Insulindosis, noch von der Raschheit des Blutzuckerabfalls und dem Grad der Hypoglykämie abhängig seien; die Verschiedenheit der individuellen Reaktion sei vielmehr sowohl beim Menschen wie beim Tier an den Zustand der Reserven gebunden.

Der Amerikaner *Dotti* schließt aus seinen Versuchen an Kaninchen, daß die nach Insulin auftretende initiale Hyperglykämie mit der individuellen Empfindlichkeit auf Insulin zusammenhänge; die letztere soll ihrerseits wiederum abhängig sein vom Ernährungszustand bzw. von der Glykogenreserve. Aus dem Verlauf der Blutzuckerkurve in der ersten halben Stunde nach der Insulininjektion könne deshalb auf die Krampfbereitschaft für Insulin geschlossen werden. Interessant ist ferner die Angabe *Dottis*, daß das weibliche Kaninchen auf Insulin empfindlicher, in seiner Reaktion aber konstanter sei als das männliche Tier.

Die Erklärung für das Nichtauftreten von Krämpfen trotz höchster Insulindosen und niedrigstem Blutzuckergehalt ist also offenbar doch in der Tatsache zu suchen, daß unsere Versuchstiere weniger lange gefastet hatten als die Kaninchen früherer Untersuchungsserien. Bei Kaninchen 205, das vor dem Versuch 275 mg-% Blutzucker aufgewiesen hatte, erscheint es durchaus klar, daß die vorhandene Reserve zur Vermeidung von Krämpfen ausreichte; andererseits ist dann wiederum nicht recht verständlich, warum z. B. bei Kaninchen 203, bei dem 5 Stunden nach der Insulininjektion überhaupt kein Blutzucker mehr nachweisbar war, keine Krämpfe auftraten; denn hier hätte man doch erwarten müssen, daß ein rascher Ausgleich des Blutzuckers und die Erhaltung der Konzentration in den Nervenzellen nicht zustande kam. Für solche Fälle muß wohl die individuell verschiedene Krampfbereitschaft der Kaninchen, die auch beim einzelnen Tier wechseln kann und vielleicht abhängig ist von einer neurovegetativen Stimmung, als Erklärung herangezogen werden. *Zeckwer* äußert sich zu dieser Frage wie folgt: „Die gegen Insulin refraktären Kaninchen zeigten zwar nach hohen Insulingaben (10—66 Einh.) eine starke Blutzuckersenkung, doch erholten sich die Tiere nach wenigen Stunden ohne Verabreichung von Traubenzucker. Es wird angenommen, daß die insulinresistenten Kaninchen besonders leicht das Glykogen der Leber als Gegenwirkung gegenüber dem Insulin mobilisieren können. An dieser Regulierung sind Schilddrüse, Nebenniere und sympathisches Nervensystem mitbeteiligt, wie dies auch aus den ausführlich beschriebenen Befunden anderer Forscher

hervorgeht." Interessant ist in diesem Zusammenhang auch die Angabe von *Sigwald*, daß er an mit Insulin behandelten Hunden bei einer Hypoglykämie von 28, 26 und 56 mg-% Krämpfe beobachtet habe, während diese bei einer Hypoglykämie von 10, 11, 18 und 9 mg-% ausgeblieben seien.

3. Pathologisch-anatomische Befunde.

Das Schwergewicht der vorliegenden Arbeit wurde, wie eingangs schon erwähnt, auf die Feststellung der pathologisch-anatomischen Veränderungen am Myokard der mit großen und größten Insulindosen behandelten Kaninchen sowie der nicht mit Insulin behandelten Kontrolltiere gelegt.

Als wichtigstes Ergebnis unserer Untersuchungen hat sich dabei ergeben, daß wir erstmals, und zwar bei Versuchs- und Kontrolltieren, Fasernekrosen in den Papillarmuskeln und der Wand des Myokardes feststellen konnten, womit die von *Tannenberg* im Jahre 1939 und von *Meessen* in den Jahren 1938 und 1940 an mit Insulin behandelten Kaninchen erhobenen Befunde eine Bestätigung erfahren. Daneben fanden sich wiederum, wie in den früheren Tierversuchen von *Hadorn* und *Walthard*, im Myokard aller Versuchs- und Kontrolltiere entzündliche Veränderungen verschiedenen Grades (Abb. 1—4).

Unsere neuen Versuche sprechen deutlich dafür, daß das Auftreten von Fasernekrosen von der verwendeten Insulinmenge unabhängig ist: die 4 Versuchstiere mit Fasernekrosen im Myokard hatten folgende Dosen erhalten:

K. 202: 400 Einh. Insulin „Novo" intravenös.
K. 203: 1000 Einh. Insulin „Novo" intravenös, tags darauf noch 50 Einh. Insulin „Novo" subcutan.
K. 205: 1000 Einh. Insulin „Novo" intravenös, tags darauf noch 1000 Einh. Insulin „Novo" subcutan. 4 Stunden nach der 2. Injektion Spontantod im Shock.
K. 207.: 120 Einh. Insulin „Bayer" intravenös.

Von den 5 Kaninchen, die alle 1000 Einh. Insulin intravenös erhalten hatten, wiesen nur 2 Nekrosen auf. Andererseits gehört zu den mit Myokardnekrosen behafteten Kaninchen auch K. 207, welches die kleinste aller Insulindosen (120 Einh.) erhalten hatte. Die bei ihm beobachteten irreversiblen Herzmuskelveränderungen können wohl auch nicht der verwendeten Insulinmarke (Bayer) zur Last gelegt werden, da als Gegenbeispiel K. 210, welchem außer 100 Einh. Insulin „Novo" subcutan noch 500 Einh. Insulin „Bayer" intravenös injiziert worden waren, keinerlei Fasernekrosen aufwies. Wir haben besonderen Wert darauf gelegt, 2 unserer Versuchstiere mit Insulin „Bayer", welches mit dem von *Meessen* verwendeten Insulin „Höchst" identisch ist, zu behandeln, da wir eventuelle insulinbedingte Versuchsresultate mit Sicherheit auszuschließen wünschten.

Ebenso unwahrscheinlich erscheint ein direkter Zusammenhang zwischen den Krampfanfällen und dem Auftreten der Nekrosen. Einmal ist zu sagen, daß in den schon mehrfach erwähnten Versuchen von *Hadorn* und *Walthard* von 1939 an einem großen Material (52 Kaninchen) trotz häufigem Auftreten schwerer Krämpfe keine Nekrosen gefunden wurden; andererseits hatten in den diesjährigen Versuchen von den 4 Versuchstieren mit Faserneкrosen 3 mittelschwere bis schwere, das 4. Tier dagegen, welches an Ausdehnung der Nekrosen den anderen nicht nachstand, gar keine Krämpfe durchgemacht. *Tannenberg* erwähnt ebenfalls, daß die von ihm beobachteten hydropischen Veränderungen in der Herz- und Skeletmuskulatur der mit Insulin behandelten Kaninchen auch dann zu finden waren, wenn Krämpfe gefehlt hatten.

Von größtem Interesse waren sodann die Befunde bei den 8 Kontrolltieren, von denen die Hälfte in den Papillarmuskeln und in der Wand beider Ventrikel Faserneкrosen von gleicher Art und Ausdehnung aufwiesen wie die Versuchstiere; 2 Kontrolltiere zeigten zudem Schwielenbildung. Als neuer Befund zu der in den früheren Versuchen bereits festgestellten chronischen Myokarditis kommt also hinzu, daß im Myokard des Kaninchens auch spontane Faserneкrosen auftreten, und daß spontane Schwielenbildung beobachtet werden kann (Abb. 2, 3 und 4).

Von den Kontrolltieren mit Faserneкrosen war, wie schon erwähnt, nur eines 2mal je 1 Stunde auf das Kaninchenbrett aufgespannt worden. Da *Veith* in seinen Untersuchungen einzig und allein durch das Aufspannen auf das Kaninchenbrett hypoxämische Nekrosen im Herzmuskel des Kaninchens beobachtet hat, könnte diese Ätiologie auch bei dem 2mal aufgespannten Kontrolltier in Frage kommen. Es sind jedoch auch bei weiteren, nicht aufgespannten Kontrolltieren Nekrosen und Schwielenbildungen festgestellt worden, so daß der Grund für die Entstehung dieser Veränderungen auch weiterhin unklar bleibt, möglicherweise doch eine infektiöse Genese in Frage kommt.

Unsere neuen Befunde an den nicht aufgespannten Kontrolltieren deuten in der gleichen Richtung wie die *Veith*schen Untersuchungen (Kreislauflabilität der Kaninchen); sie gehen sogar noch einen Schritt weiter, indem sie uns das Vorkommen von Nekrosen und Schwielenbildungen als eine spontane Affektion nachweisen. Durch diese Feststellungen werden die Beobachtungen von anämischen Nekrosen im Myokard des Kaninchens nach künstlicher Anämisierung und Arbeitsbelastung, wie sie in einer Reihe von Arbeiten speziell der *Büchner*schen Schule niedergelegt wurden, in ihrer Bedeutung eingeschränkt und in ihrem Werte entsprechend gemindert. Es ist allerdings zuzugeben, daß bei den erwähnten Untersuchungen ein mehr oder weniger großer Teil der Nekrosen ohne Zweifel auf die experimentelle Hypoxie zurückzuführen ist; nach unseren neuesten Versuchen ist es jedoch außerordentlich schwierig, jeweilen zu entscheiden, was spontane Veränderungen

und was experimenteller Schaden sind. Die Tatsache, daß in den Versuchen von *Meessen, Taterka, Veith* u. a. m. die Nekrosen in den einen Fällen speziell im rechten Ventrikel (Histaminkollaps), in anderen Fällen im linken Ventrikel (orthostatischer Kollaps) auftraten, bildet den Beweis, daß sie in diesen Fällen zum mindesten teilweise spezifische Folgen des Experimentes sind.

Ganz eigentümlich berührt der Umstand, daß in den früheren Versuchen von *Hadorn* und *Walthard* an 52 Kaninchen in sehr zahlreichen Schnitten überhaupt keine Nekrosen gefunden wurden. Die Diskrepanz zwischen diesen Befunden und den gegenwärtigen, wo sowohl an Versuchs- wie an Kontrolltieren Nekrosen festgestellt wurden, läßt sich durch die Höhe der jeweils injizierten Insulindosen, wie dies *Meessen* glaubt, nicht erklären; denn K. 207 der letzten Untersuchungsserie, welches am meisten Nekrosen aufwies, erhielt die kleinste Dosis von 120 Einh., während in den früheren Versuchen von *Hadorn* und *Walthard* auch Dosen bis zu 400 Einh. verabfolgt worden sind. Diese Tatsache zeigt uns nicht nur eindringlich, daß die Kaninchen kreislauflabil sind, sondern daß die verschiedenen Kaninchen auch in verschiedenem Maße kreislauflabil sind. Vielleicht besteht auch bei der Kreislauflabilität der Kaninchen, wie dies bei der Krampfbereitschaft festgestellt wurde, ein Unterschied in der Empfindlichkeit weiblicher und männlicher Tiere.

Bezüglich der entzündlichen Herde, die sowohl bei den mit Insulin behandelten als auch bei den Kontrolltieren gefunden wurden, ist in Übereinstimmung mit *Miller* zu sagen, daß die chronische Myokarditis als Spontanerkrankung beim Kaninchen außerordentlich häufig, ja fast regelmäßig vorkommt. Diese Tatsache wurde kürzlich wiederum in einer kleinen Versuchsserie durch *Kaganas* bestätigt, der auf unserer Abteilung die Wirkungen des Amylnitrites und des Nitroglycerins auf den menschlichen und tierischen Kreislauf untersucht[1]. Bei 2 von 3 Kaninchen, die während mehreren Wochen täglich Amylnitrit und Nitroglycerin erhalten hatten, fanden sich bei der eingehenden histologischen Untersuchung (von jedem Kaninchenherz wurden aus verschiedenen Höhen zahlreiche Schnitte untersucht) im Myokard des linken Ventrikels entzündliche Infiltrate mit epitheloiden Zellen und Lymphocyten. Im einen Fall bestand der entzündliche Herd aus einem mächtigen Granulom, wobei die Muskelfasern im Bereiche des Granuloms zerstört waren.

Unsere Befunde über das Vorkommen der chronischen Myokarditis als Spontanerkrankung des Kaninchens decken sich mit den erwähnten Befunden von *Miller*. Sie werden sowohl von *Wegelin* und *Walthard* als auch von *Miller* als milde Infektion (Stallinfektion) aufgefaßt. *Tannenberg* glaubt, daß sich die in seinen Versuchen festgestellten Rundzelleninfiltrate mit nekrotischen Muskelfasern, die mit Phagocyten infiltriert waren, dank dieser Anordnung von den Herden von chronischer Myokarditis, wie sie *Miller* beschreibt, streng unterscheiden. Nach unseren

[1] Dissertation Bern (im Druck).

Ergebnissen gehen jedoch die von *Miller* und von *Tannenberg* beschriebenen histologischen Bilder ineinander über.

Aus unseren Untersuchungen geht zweifellos hervor, daß die anatomischen Befunde am Herzen der mit Insulin behandelten Kaninchen keine Analogieschlüsse auf den Menschen zulassen, ganz abgesehen davon, daß die Insulindosen, die beim Menschen zur Anwendung kommen, im Vergleich zu den bei den Kaninchen angewendeten exorbitanten Dosen sehr klein sind. Die Untersuchungen an den Kontrolltieren bestätigen die von *Veith* u. a. gemachte Beobachtung, daß der Kreislauf des Kaninchens äußerst empfindlich ist, so daß das Kaninchen für manche Kreislaufuntersuchungen, speziell zu Herzuntersuchungen, ein weniger geeignetes Versuchstier darstellt. Die von *Meessen* und *Walthard* gemachte Anregung, daß man die Nachforschungen über die Frage von irreversiblen Herzmuskelveränderungen nach Insulin nicht am Kaninchen, sondern beispielsweise am Hund anstellen sollte, möchten wir lebhaft unterstützen.

Zusammenfassung.

Die vorliegende Arbeit stützt sich einerseits auf die experimentellen Untersuchungen von *Hadorn* und *Walthard* (1938) über anatomische Herzmuskelveränderungen im Insulinshock, welche ergeben hatten, daß den ziemlich schweren funktionellen Störungen, wie sie im Elektrokardiogramm im Anschluß an Insulininjektionen festgestellt werden können, keine histologisch nachweisbare Veränderung am Herzmuskel entspreche, andererseits auf die Publikationen von *Meessen* aus den Jahren 1938 und 1940, welcher in seinen gleichartigen Untersuchungen bei fast allen Tieren Herzmuskelfasernekrosen der beiden Ventrikel und vereinzelt auch der Vorhofmuskulatur gefunden hatte.

Die Versuche wurden an 11 Kaninchen ausgeführt, welchen, meist in einmaliger Dosis, 120—1000 Einh. Insulin injiziert wurde. Die Tiere wurden vor dem Versuchsbeginn einige Stunden bis 2 Tage nüchtern gehalten. 8 weitere Kaninchen wurden als Kontrolltiere verwendet; sie erhielten kein Insulin und wurden, mit einer Ausnahme, auch nicht auf das Kaninchenbrett aufgespannt.

Die elektrokardiographischen Untersuchungen zeigten als eindrücklichste Veränderung die Abflachung und Inversion von T; ferner wurden beobachtet leichte Senkungen der S-T-Strecke, Vergrößerung der P-, R- und S-Zacken und Verkleinerung der R-Zacke.

Die pathologisch-anatomischen Untersuchungen des Herzmuskels ergaben bei 4 von 11 Versuchstieren typische Fasernekrosen in den Papillarmuskeln und der Wand des linken Ventrikels, einmal auch in der Vorhofsmuskulatur. Bei allen Versuchstieren (mit einer Ausnahme) fanden sich zudem in den Papillarmuskeln und der Wand beider Ventrikel diffuse oder herdförmige, meist perivasculär angeordnete Infiltrate aus Lymphocyten und pseudoeosinophilen Leukocyten. In 3 Fällen ließ sich im Myokard eine Schwielenbildung nachweisen.

Von den 8 Kontrolltieren wiesen 4 Kaninchen in den Papillarmuskeln und in der Wand beider Ventrikel ebenfalls Fasernekrosen, 2 zudem noch Schwielenbildungen auf. Bei sämtlichen Tieren dieser Gruppe ließen sich im Myokard verschiedene Grade von chronischer Entzündung, zum Teil mit Granulombildung, feststellen.

In der Erörterung der Versuchsergebnisse werden die Beziehungen zwischen Insulindosis, Blutzuckergehalt und Krampfbereitschaft besprochen; eine Erklärung für das beobachtete Nichtauftreten von Krämpfen trotz höchster Insulindosen (bis 2000 Einh.) und niedrigstem Blutzuckergehalt könnte eventuell in der Tatsache zu suchen sein, daß die Versuchstiere weniger lang gefastet hatten als die Versuchstiere früherer Untersuchungsserien.

Die angestellten Versuche sprechen entschieden dagegen, daß zwischen der verwendeten Insulinmenge und dem Auftreten der Fasernekrosen eine Abhängigkeit besteht; auch ein Zusammenhang zwischen den Krampfanfällen und der Entstehung der Nekrosen wird abgelehnt. Auf die große Kreislauflabilität der Kaninchen wird nachdrücklich hingewiesen und betont, daß auch bei den einzelnen Tieren noch große Unterschiede im Grade der Labilität bestehen.

Die entzündlichen Herde im Myokard, die sowohl bei den mit Insulin behandelten Kaninchen wie bei den Kontrolltieren festzustellen waren, werden in Übereinstimmung mit *Miller* als Spontanerkrankung (Stallinfektion) aufgefaßt, die bei Kaninchen fast regelmäßig vorkommt.

Aus den Untersuchungen geht zweifellos hervor, daß die anatomischen Befunde am Herzen der mit Insulin behandelten Kaninchen keine Analogieschlüsse auf den Menschen zulassen, und es wird die Anregung von *Meessen* und *Walthard* unterstützt, daß Nachforschungen über die Frage von irreversiblen Herzmuskelveränderungen nach Insulin in Zukunft nicht am Kaninchen, sondern beispielsweise am Hund gemacht werden sollten.

Schrifttum.

Allan, Fr. M.: Ann. int. Med. **12**, 1263 (1939). — *Büchner, F.:* Klin. Wschr. **1938 II**, 1713. — *Campailla, G.:* Giorn. Psichiatr. e Neuropat. **67**, 343 (1939). — *Christ, C.:* Beitr. path. Anat. **94**, 111 (1934). — *Dotti, L. B.:* Amer. J. Physiol. **114**, 538 (1936). — *Hadorn, W.:* Z. klin. Med. **130**, 643 (1936). — *Hadorn, W.:* Arch. Kreislaufforsch. **2**, 1 (1937). — *Hadorn, W.* u. *B. Walthard:* Z. exper. Med. **105**, 174 (1939). — *Longcope, Wright, Craighead de Vecchi* u. *Natali:* Zit. nach *Miller.* — *Macleod, J. J. R.:* Kohlehydratstoffwechsel und Insulin. Berlin: Springer 1927. — *Meessen, H.:* Verh. dtsch. Ges. Kreislaufforsch. **10**, 198 (1937); **11**, 275 (1938). — Beitr. path. Anat. **102**, 191 (1939). — Arch. Kreislaufforsch. **6**, 361 (1940). — *Meyer, H. E.:* Zbl. inn. Med. **1936**, 761. — *Miller, C. Ph.:* J. of exper. Med. **40**, 543 (1924). — *Sakel, M.:* Neue Behandlungsmethode der Schizophrenie. Wien 1935. — *Schirrmeister, Siegfr.:* Arch. Kreislaufforsch. **5**, 264 (1939). — *Tannenberg, J.:* Amer. J. Path. **15**, 25 (1939). — *Taterka, T.:* Beitr. path. Anat. **102**, 2 (1939). — *Veith, G.:* Arch. Kreislaufforsch. **6**, 351 (1940). — *Walder, R.:* Beitr. path. Anat. **102**, 485 (1939). — *Zeckwer, I. T.:* Amer. J. Physiol. **106**, 273 (1933).

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz A.G., Würzburg. — Printed in Germany.